



# JURNAL LABORATORIUM KHATULISTIWA

e-ISSN : 2597-9531

p-ISSN : 2597-9523



## VALIDASI SPEKTROFOTOMETER UV-VIS PADA ANALISIS FORMALIN DI POLTEKKES KEMENKES PONTIANAK

✉ **Hendra Budi Sungkawa, Anjas Awi Ladika**

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Pontianak

*E-mail* : [hendrabudis.budis@gmail.com](mailto:hendrabudis.budis@gmail.com)

**Submitted** : 7 Desember 2018 ; **Revised** : 8 Februari 2019; **Accepted** : 9 Maret 2019

**Published** : 30 April 2019

### Abstract

Validation is the process of determine a method, an instrument and a technician to fulfil the requirements for testing. Validation of the instrument needs to be done separately. The UV-VIS spectrophotometer in Poltekkes Kemenkes Pontianak has many advantages such as wave length 190 - 1100 nm, using double beam optical system, has 2 nm spectrum bandwidth, but the using of the instrument has not been maximized. It is necessary to validate the UV-VIS spectrophotometer. The aim of this research is to determine the precision, accuracy, linearity, Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantification (LOQ) on UV-VIS spectrofotometer on formalin analysis at Poltekkes Kemenkes Pontianak. The research uses pre-experimental design and purposive sampling method with formalin standard as population. The sample used is formalin standard with various concentration 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm and 5 ppm with nine replication. Samples reacted with chromotophore acid, the purple color showed the sample containing formalin, then absorbance value measured to obtain formalin content in the sample. The result of precision value 94.43%, accuracy value 97.77%, linearity test in the concentration range 0-10 ppm gives correlation coefficient value  $r = 0.918$  with the limit of detection (LOD) of the formalin is 4.98 ppm and the limit of quantification (LOQ) of the formalin is 16.60 ppm. Based on the result of the research that it can be concluded that UV-VIS spectrophotometer on formalin analysis in Poltekkes Kemenkes Pontianak well validated because of the fulfillment of five validation parameter criteria.

**Keywords** : Validation, Spectrophotometer, Precision , Accuracy, Linearity, LOD, LOQ, Formalin

Validasi adalah proses untuk memastikan apakah suatu metode, alat dan teknisi memenuhi persyaratan untuk pengujian. Validasi alat perlu dilakukan tersendiri. Spektrofotometer UV-VIS yang ada di Poltekkes Kemenkes Pontianak memiliki banyak kelebihan diantaranya rentang gelombang yang lebih lebar 190 – 1100 nm, menggunakan sistem optik double beam, memiliki bandwidth spektrum 2 nm, namun penggunaannya belum maksimal. Maka perlu dilakukan validasi terhadap spektrofotometer UV-VIS tersebut. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) pada Spektrofotometer uv-vis pada analisis formalin di Poltekkes Kemenkes Pontianak. Penelitian ini menggunakan desain pre-experimental metode purposive sampling dengan populasi standar formalin. Sampel yang digunakan yaitu standar formalin dengan berbagai konsentrasi 0 ppm , 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm dengan pengulangan sebanyak sembilan kali. Sampel direaksikan dengan asam kromatofat, perubahan warna menjadi ungu menunjukkan sampel mengandung formalin, kemudian diukur nilai absorbansinya untuk mendapatkan kadar formalin dalam sampel. Hasil penelitian nilai presisi 94.43%, nilai akurasi 97.77%, uji linearitas pada rentang konsentrasi 0 – 10 ppm memberikan nilai koefisien korelasi  $r = 0.918$  dengan batas deteksi (LOD) formalin 4.98 ppm dan batas kuantitasi (LOQ) 16.60 ppm. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa spektrofotometer UV-VIS pada analisis formalin di Poltekkes Kemenkes Pontianak tervalidasi dengan baik karena terpenuhinya kriteria lima parameter validasi.

**Kata Kunci** : Validasi, Spektrofotometer, Presisi, Akurasi, Linearitas, LOD, LOQ, Formalin

## PENDAHULUAN

Laboratorium pengujian adalah laboratorium yang melakukan kegiatan teknis dengan menggunakan metode yang mendukung operasional laboratorium untuk penetapan, penentuan satu atau lebih sifat karakteristik dari suatu produk, bahan, organisme, peralatan, fenomena fisik, proses atau jasa sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan (Hadi, 2000).

Kehandalan suatu metode yang digunakan oleh laboratorium harus ditetapkan dengan benar dan tepat. Hasil kinerja yang paling penting seperti batas deteksi (LOD), batas kuantitasi (LOQ), akurasi, presisi, ketangguhan (*ruggedness*) dan kekuatan (*robustness*) harus ditetapkan dalam kondisi yang sebenarnya, seperti teknisi laboratorium yang menggunakan metode uji dalam pekerjaan rutin harus dalam kondisi yang sebenarnya (Siregar & Hendrayana, 2007).

Validasi merupakan proses berkelanjutan dan dengan tegas dinyatakan bahwa setiap modifikasi dari sistem analitik seperti laboratorium berbeda, peralatan uji berbeda, penguji berbeda dan lain-lain, diharuskan melakukan validasi tersendiri yang disesuaikan dengan jenis dan lingkup modifikasi (Siregar & Hendrayana, 2007).

Berkaitan dengan kekhususan validasi, maka validasi alat perlu dilakukan tersendiri. Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Kelebihan spektrofotometer adalah panjang gelombang dari sinar polikromatis lebih terseleksi karena spektrofotometer dilengkapi dengan monokromator seperti prisma, grating, atau celah optis (Khopkar, 2003).

Spektrofotometer UV-VIS yang dimiliki oleh Poltekkes Kemenkes Pontianak memiliki kelebihan pada rentang gelombang yang lebih lebar yaitu 190 – 1100 nm. Spektro ini juga memiliki sistem optik *double beam* dimana nilai blanko dapat langsung diukur bersamaan dengan larutan yang diinginkan dalam satu kali proses yang sama. Dan memiliki penyimpangan cahaya yang sangat kecil yaitu  $\leq 0,05\%$  T. Serta memiliki *bandwidth* spektrum 2 nm. Dibandingkan dengan spektrofotometer UV-VIS yang berasal dari 1 vendor walaupun rentang panjang gelombang yang dapat diukur sama besar namun sistem optiknya *single beam* yaitu cahaya hanya melewati satu arah sehingga nilai yang diperoleh hanya nilai absorbansi dari larutan yang dimasukkan sehingga mengakibatkan pengukuran kurang efisien. Memiliki penyimpangan cahaya yang besar yaitu 0.5% T (PT. Indo Tekhnoplus, 2010).

Spektrofotometer UV-VIS banyak digunakan dalam praktek analisis makanan, obat-obatan, penelitian lingkungan, industri farmasi dan institusi biokimia (PT. Indo Tekhnoplus, 2010). Penggunaan forma-

lin pada makanan merupakan tindakan yang salah namun tetap dilakukan oleh produsen pangan yang tidak bertanggung jawab (Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI, 2008). Bahaya paparan jangka panjang formalin dapat menyebabkan sakit kepala, gangguan pernafasan, gangguan ginjal, penurunan daya ingat gangguan keseimbangan. Tertelan formalin dalam jumlah sedikit secara berulang dapat menyebabkan iritasi saluran pencernaan, muntah dan pusing (Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI, 2008).

Pemeriksaan formalin dapat dilakukan di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Pontianak dengan spektrofotometer UV-VIS. Dengan tersedianya spektrofotometer UV-VIS yang baru dan canggih namun penggunaannya yang belum maksimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui validasi seperti presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi (LOD) dan batas kuantitas (LOQ) pada spektrofotometer uv-vis pada analisis formalin di Poltekkes Kemenkes Pontianak.

## METODE PENELITIAN

Penelitian bersifat observasional analitik dengan desain pre-experiment. Populasi dalam penelitian ini yaitu larutan formalin dengan sampel larutan standar formalin dalam beberapa konsentrasi. Pengulangan atau replikasi pengukuran dilakukan sembilan kali pada tiap sampel dengan enam konsentrasi yaitu 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm maka jumlah sampel penelitian ini sebanyak 54 sampel. Pengumpulan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling*. Pengumpulan data dilakukan dengan menggunakan sumber data yang berasal dari pengukuran kadar standar formalin dengan spektrofotometer uv-vis dan dibantu oleh lima orang enumerator yang akan melakukan uji kadar formalin dengan ketentuan mahasiswa semester delapan dengan nilai instrumen semester dua dan tiga A serta bersedia menjadi enumerator.

Metode pemeriksaan dilakukan dengan melakukan pengukuran kadar formalin secara kualitatif dengan metode asam kromatofat kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis. Prinsip pemeriksaan dengan spektrofotometer yaitu formalin dalam sampel bereaksi dengan asam kromatofat kemudian dipanaskan dalam beberapa menit akan terjadi perubahan warna ungu atau violet yang stabil (Salim, 2007).

Alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya pipet ukur, mikropipet, neraca analitik, penangas air, spektrofotometer uv – vis kuvet dan stabilizer. Bahan yang digunakan yaitu Asam sulfat pekat, asam kromatofat, aquadest, formalin 37%, formalin dengan

berbagai konsentrasi (1000ppm, 100ppm, 10ppm, 5ppm, 4ppm, 3ppm, 2ppm, dan 1 ppm).

Pengerjaan sampel dilakukan dengan urutan pembuatan reagen dan larutan standar formalin, pembuatan larutan standar dengan cara manual kemudian dilakukan pengukuran absorbansi formalin secara spektrofotometer, penentuan panjang gelombang maksimum, pembuatan kurva standar (linearitas), pemeriksaan kadar formalin dalam sampel (standar formalin).

Reagen yang diperlukan yaitu larutan asam Kromatofat 0.5% dengan larutan standar Formalin 1000ppm, 100ppm, 10ppm, 5ppm, 4ppm, 3ppm, 2ppm, 1ppm, dan 0ppm. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara larutan standar formalin 10ppm diukur dengan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang mulai dari 490nm sampai dengan 590nm dengan rentang tiap 10nm yang dipersempit mengikuti nilai absorbansi. Panjang gelombang maksimum merupakan nilai absorbansi yang paling tinggi.

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan menggunakan deretan standar formalin 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 10 ppm yang ditambah dengan pereaksi kemudian diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer uv-vis kemudian dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dan absorbansi sehingga dapat ditarik secara linier. Kadar formalin didapatkan dari absorbansi dalam sampel yang dihubungkan dengan menggunakan kurva dan rumus (absorbansi standar dibagi absorbansi sampel dikali kadar standar).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Panjang gelombang maksimum dapat mengabsorbansi sampel secara maksimum, pencarian gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur standar formalin konsentrasi 10 ppm dan panjang gelombang pada rentang 490 nm – 590 nm. Panjang gelombang maksimum digunakan karena memiliki kepekaan yang maksimum, sehingga menghasilkan nilai absorbansi yang maksimum. Selain itu pengukuran dengan panjang gelombang maksimum akan membentuk kurva absorbansi yang linier untuk memenuhi kaidah hukum Lambert-Beer (Gandjar & Rohman, 2009). Setelah dilakukan pengukuran standar formalin 10 ppm didapat panjang gelombang maksimum pada 565 nm. Panjang gelombang ini berada pada daerah sinar tampak ungu, hal ini menunjukkan sampel memenuhi syarat penggunaan untuk dianalisis.

Presisi menunjukkan seberapa dekatnya suatu hasil pemeriksaan yang dilakukan berulang dengan sampel yang sama (ketelitian). Presisi dinyatakan dalam nilai *coefficient of variation* (CV) (Riyanto, 2014). Syarat nilai CV uji presisi untuk senyawa dengan kadar  $\leq 1.00\%$  berkisar antara 5-15% (Gandjar &

Rohman, 2009).

**Tabel 1.** Presisi Pada Pemeriksaan Standar Formalin

Rata-rata persen <i>recovery</i> per konsentrasi	SD	CV
0 ppm	100.00	
1 ppm	111.22	
2 ppm	105.00	
3 ppm	113.26	5.91 5.57%
4 ppm	103.92	
5 ppm	102.36	
Rata-rata <i>recovery</i> total	105.96	

Pada penelitian ini didapat nilai CV 5.57% nilai tersebut menunjukkan terpenuhinya persyaratan parameter uji presisi. Nilai presisi didapat dari 100% dikurangi CV maka nilai presisinya adalah 94.43%.

Akurasi adalah kedekatan hasil analisis dengan nilai yang sebenarnya. Uji akurasi pada spektrofotometer menggunakan standar formalin sebagai sampel dengan berbagai konsentrasi dan replikasi sebanyak sembilan kali.

**Tabel 2.** Akurasi Pada Pemeriksaan Standar Formalin

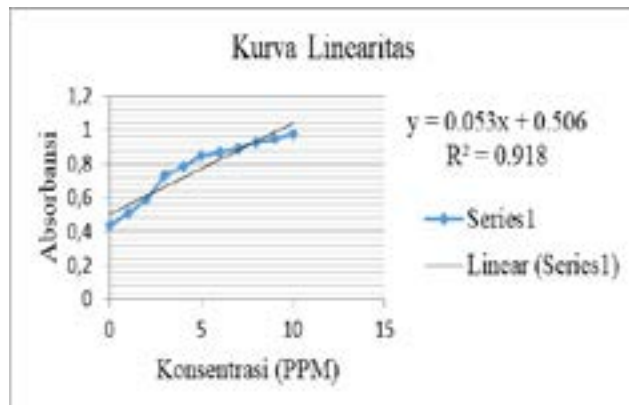
Standar Formalin Terukur (PPM)	Inakurasi (%)	Rata-rata persen <i>recovery</i> per konsentrasi (%)	
0.00 ppm	0.00	0 ppm	100.00
1.11 ppm	2.80	1 ppm	111.22
2.10 ppm	3.07	2 ppm	105.00
3.40 ppm	3.14	3 ppm	113.26
4.16 ppm	2.16	4 ppm	103.92
5.12 ppm	2.21	5 ppm	102.36
Inakurasi	2.23%	Rata-rata <i>recovery</i> total	105.96%
Akurasi	97.77%		

Akurasi dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*recovery*). Nilai *recovery* dihitung dengan cara membandingkan nilai konsentrasi terukur dengan nilai konsentrasi yang sebenarnya kemudian dikalikan 100%. Nilai *recovery* perkonsentrasi yaitu 0 ppm sebesar 100.00%, 1 ppm 111.22%, 2 ppm 105.00%, 3 ppm 113.26%, 4 ppm 103.92, 5 ppm 102.36%. *Recovery* seluruh konsentrasi 105.96% syarat nilai *recovery* untuk sampel dengan konsentrasi analit  $<0.1\%$  adalah 90-107% (Riyanto, 2014) dan nilai akurasi sebesar 97.77%.

Linearitas menunjukkan kemampuan alat untuk memperoleh hasil uji yang sebanding dengan konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas menunjukkan seberapa baik kurva baku yang menghubungkan ab-

sorban (y) dengan konsentrasi (x). Linearitas diukur dengan melakukan pengukuran tunggal terhadap sampel dengan konsentrasi yang berbeda (Gandjar & Rohman, 2009).

Uji linearitas terhadap spektrofotometer di Poltekkes Kemenkes Pontianak dengan cara mengukur standar formalin konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3



ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm, 9 ppm, 10 ppm dengan panjang gelombang maksimum 565 nm.

**Gambar 1.** Kurva Linearitas Standar Formalin

Berdasarkan pengukuran linearitas tersebut diperoleh persamaan garis regresi untuk standar formalin yaitu:  $Y = 0.053x + 0.506$  dengan koefisien korelasi ( $r = 0.918$ ). Setelah dilakukan uji linearitas dilanjutkan dengan melakukan uji sampel, yaitu mengukur sampel (standar formalin) dengan konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm.

**Tabel 3.** Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)

$\sum (Y_i - \bar{Y})^2$	0.4023
$S (Y/X)^2$	0.0077
$S (Y/X)$	0.0879
LOD	4.98
LOQ	16.60

Limit deteksi (LOD) adalah konsentrasi terendah analit yang dapat terdeteksi, tetapi tidak perlu terkuantifikasi. Limit kuantifikasi (LOQ) adalah konsentrasi terendah analit yang dapat ditentukan dengan tingkat presisi dan akurasi yang dapat diterima (Riyanto, 2014).

Cara menentukan LOD dan LOQ melalui garis regresi linier kurva absorbansi y berhubungan linier dengan konsentrasi sampel x. Hal ini dapat dinyatakan dalam persamaan  $y = bx + a$  (Riyanto, 2014). Dalam penelitian ini didapat kurva linearitas dengan persamaan  $Y = 0.053x + 0.506$ .

Dari persamaan tersebut dicari nilai LOD dan LOQ. Pengukuran sampel yang diperiksa menghasilkan nilai absorbansi. Kadar formalin terukur dihitung dengan membandingkan absorbansi sampel dan ab-

sorban standar dikali dengan kadar formalin standar. Dari hasil tersebut didapat nilai LOD 4.98 ppm dan nilai LOQ 16.60 ppm.

Secara keseluruhan nilai presisi, akurasi, linearitas, LOD dan LOQ memenuhi kriteria parameter validasi. Bila dilihat lebih teliti nilai *recovery* per-konsentrasi mengalami fluktuasi yang bervariasi bahkan beberapa konsentrasi memiliki nilai yang ekstrim. Hal ini dapat disebabkan karena cara memperoleh nilai *recovery* yaitu dengan cara membandingkan konsentrasi yang diperoleh dengan konsentrasi yang sebenarnya, dimana konsentrasi sebenarnya berperan sebagai penyebut yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm. Dimana semakin besar nilai penyebut maka hasil perbandingannya akan semakin kecil.

## PENUTUP

Hasil penelitian diperoleh bahwa spektrofotometer UV-VIS pada analisis formalin di Poltekkes Kemenkes Pontianak tervalidasi dengan baik dengan nilai presisi 94.43%, nilai akurasi 94.04% dan *recovery* 105.96%, linearitas dengan nilai koefisien korelasi  $r = 0.918$ , nilai batas deteksi LOD 4.98 ppm serta nilai batas LOQ 16.60 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. Formalin (Larutan Formaldehid) (2008). Jakarta.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2009). *Kimia Farmasi Analisis* (Cetakan IV). Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Hadi, A. (2000). *Sistem Manajemen Mutu Laboratorium*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Umum.
- Khopkar, S. M. (2003). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- PT. Indo Tekhnoplus. (2010). *Spektrofotometer*. Tangerang.
- Riyanto. (2014). *Validasi Dan Verifikasi Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Salim. (2007). *Penetapan Kadar Formaldehida Dalam Asap Cair (Liquid Smoke) Dengan Metode Spektrofotometri Visibel*. Universitas Sanata Dharma.
- Siregar, C. J. P., & Hendrayana, T. (2007). *Praktik Sistem Manajemen Laboratorium-Pengujian yang Baik (Good Testing-Laboratory Management System Practice)*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.